

## РОЛЬ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ – КЛИНИЧЕСКИЕ И ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Салахова Л.М.<sup>1</sup>, Сарыева О.П.<sup>1</sup>, Малышкина А.И.<sup>1</sup>, Кулида Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор – д.м.н. А.И. Малышкина, г. Иваново, Россия (153045), e-mail:ivniimid@ivnet.ru

Проблема преждевременных родов остается одной из основных проблем современного акушерства. В статье представлены клинические аспекты и патоморфологические особенности плацент при невынашивании беременности поздних сроков. Исход беременности прослежен у 124 женщин. Проведено комплексное морфологическое исследование 37 последов, включающее органометрию, макроскопическое, гистологическое и иммуногистохимические исследования. Для уточнения роли врожденного иммунитета в развитии преждевременных родов изучены особенности экспрессии комплемент-ингибирующей молекулы – протектина CD59 – в структурных компонентах плаценты. Установлено статистически значимое снижение экспрессии при преждевременных родах как в клетках базальной пластинки, так и в ворсинчатом хорионе. Полученные данные позволяют уточнить роль врожденного иммунитета в развитии преждевременных родов.

Ключевые слова: преждевременные роды, врожденный иммунитет, плацента, иммуногистохимия.

## THE ROLE OF INNATE IMMUNITY IN OF PRETERM BIRTH – CLINICAL AND PATHOLOGICAL ASPECTS

Salakhova L.M.<sup>1</sup>, Saryeva O.P.<sup>1</sup>, Malyshkina A.I.<sup>1</sup>, Kulida L.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal State Establishment «The Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named V.N. Gorodkov» of the Ministry of health of Russian Federation, Ivanovo, Russia (153045, Ivanovo, street Pobedi, 20), e-mail:ivniimid@ivnet.ru

The problem of preterm birth is one of the main problems of modern obstetrics. The article presents the clinical and pathological features of placentas for miscarriage late period. Pregnancy outcomes were traced in 124 women. We conducted comprehensive morphological study of 37 consecutive, including organometal, macroscopic, histological and immunohistochemical studies. The character of the expression of the complement-inhibitory molecule - protektin CD59 - in the structural components of the placenta were learned to clarify the role of innate immunity in the development of premature birth. It was found statistically significant decrease in expression in preterm birth in the cells of the basal plate, and in the villous chorion. The obtained data allows to clarify the role of innate immunity in the development of premature birth.

Keywords: premature birth, innate immunity, placenta, the immunohistochemistry.

Одной из важнейших проблем современного акушерства остается проблема преждевременных родов [6]. В последнее время среди причин невынашивания беременности на первый план выступают иммунные нарушения в организме женщины и инфекции, передаваемые половым путем [1]. Очевидным становится тот факт, что нормальное осуществление репродуктивной функции возможно благодаря наличию уникальных иммунологических механизмов и гармоничному их функционированию [2, 7, 10]. В связи с этим, осложнения беременности необходимо рассматривать с точки зрения нарушения регулирующей роли иммунитета на разных этапах развития системы мать-плацента-плод. Зона контакта мать-плод строго контролируется иммунной системой, особенно системой врожденного иммунитета [4, 7]. Одним из основных факторов врожденного иммунитета является система комплемента, представляющая биохимический каскад реакций. Конечным

продуктом последнего является цитолитический комплекс мембранной атаки (МАК). Центральным компонентом этого протеолитического каскада – С3. Известно, что, урогенитальные инфекции влияют в первую очередь на общее состояние иммунной системы, а именно, способствуют возрастанию содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и уровня С3-компонента комплемента [9].

В настоящее время известны 3 пути активации комплемента: классический, альтернативный и лектиновый, которые регулируются мембранными и плазменными белками. Клетки плаценты на своей поверхности экспрессируют три комплемент-ингибирующие молекулы: мембранный кофакторный белок (МКБ, или MCP – membrane-associated cofactor of proteolysis, CD46), фактор, ускоряющий диссоциацию (ФУД, или DAF – decay accelerating factor, CD55) и протектин (CD59), которые блокируют формирование и функцию терминального МАК [3]. Дефицит этих белков приводит к отложению С3-компонента комплемента, притоку нейтрофилов и воспалению в плаценте. Поэтому для процессов репродукции большое значение имеют механизмы регуляции системы комплемента, поскольку неконтролируемая активация комплемента вызывает некроз клеток плаценты и потерю плода [8].

**Цель исследования:** изучение клинических аспектов и патоморфологии плацент, в том числе особенностей экспрессии CD59, при невынашивании беременности поздних сроков.

**Материал и методы.** Исход беременности прослежен у 124 беременных женщин. Основную группу (1 группа) составили 86 беременных женщин с клиническими признаками угрозы невынашивания беременности в сроке 22-33 недели, которые были поделены на 2 подгруппы: 1 составили женщины, беременность которых завершилась своевременными родами (n=52), 2 – преждевременными (n=34). В группу контроля (2 группа) вошли 38 практически здоровых беременных женщин без клинических признаков угрозы невынашивания, беременность которых завершилась своевременными родами. Морфологическими методами исследовано 37 плацент (25 в 1 и 12 во 2 группе). Комплексное морфологическое исследование включало визуальный осмотр, органомерию, обзорную гистологию. Экспрессию CD59 в плацентарной ткани определяли иммуногистохимическим методом. Иммуногистохимическая реакция проводилась по стандартной методике на парафиновых срезах [5]. В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела к CD59 класса IgG в рабочем разведении 1:200 («Santa Cruz Biotechnology»). Для проведения негативного контроля первичные антитела замещали 1% раствором бычьего сывороточного альбумина с исключением вторичных антител. Результаты иммуногистохимической реакции оценивали в 10 полях

зрения микроскопа, содержащих не менее 100 клеток, при увеличении  $\times 400$ . Индекс экспрессии (ИЭ) высчитывался по формуле:  $ИЭ = \sum P(i) \cdot i/100$ ,

где  $i$  – интенсивность окрашивания в баллах (от 0 до 3-х);

$P(i)$  – процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программ Microsoft Excel 2007, Statistica 6.0. Проверка рядов данных на нормальность распределения осуществлялась с помощью критериев Колмогорова и Манна-Уитни. Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивалась по критерию Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Средний возраст женщин в сравниваемых группах не имел достоверных отличий и составил  $26,47 \pm 0,71$  года в контрольной группе и  $27,13 \pm 0,62$  в основной ( $p > 0,05$ ). Обращал на себя внимание отягощенный гинекологический анамнез у женщин основной группы. Воспалительные процессы гениталий (кольпит, аднексит, эндометрит) отмечены практически у каждой второй пациентки основной группы (44,2%), тогда как в контрольной группе были выявлены у 15,8% ( $p < 0,001$ ). У беременных основной группы в анамнезе достоверно чаще встречалось первичное бесплодие – 4,65%, тогда как у пациенток контрольной группы данной патологии выявлено не было ( $p = 0,04$ ). При оценке репродуктивной функции выявлено, что повторнобеременными первородящими в основной группе явились 12 (14%) пациенток, что достоверно выше, чем в группе контроля (2,6%;  $p = 0,01$ ). В основной группе своевременные роды в анамнезе были у 37 (43%) женщин, преждевременные роды – у 16 (18,6%), что достоверно выше, чем в группе контроля (2,6%;  $p = 0,001$ ). Самопроизвольные выкидыши в анамнезе отмечены только у женщин основной группы (15,1%,  $p = 0,001$ ). Медицинские аборт у женщин 1 группы также отмечены достоверно чаще, чем в контрольной (37,2% против 10,5%;  $p = 0,001$ ); при этом 2 и более аборта имели 18 (21%) женщин основной группы. Пациентки основной группы достоверно чаще имели в анамнезе заболевания ЛОР-органов (24,4% против 7,9%;  $p = 0,01$ ), хронический бронхит (16,3% против 2,6%;  $p = 0,01$ ) и хронический пиелонефрит (23,3% против 7,9%;  $p = 0,02$ ) по сравнению с контролем. Обращала на себя внимание высокая частота ОРЗ в первом триместре у женщин основной группы по сравнению с контрольной (26,7% против 10,5%;  $p = 0,02$ ). Беременность у женщин с угрозой прерывания протекала чаще на фоне анемии (22,1% против 7,9%;  $p = 0,03$ ).

Женщины в сравниваемых группах были обследованы на наличие урогенитальной инфекции методом ИФА. Установлено, что пациентки с угрозой прерывания беременности

имели более высокий уровень инфицированности с преобладанием бактериального инфицирования (59,3% против 36,8%;  $p=0,02$ ) по сравнению с группой контроля. Частота выявления активной инфекции *Chlamidia trachomatis* и *Ureaplasma urealiticum* у женщин основной группы была достоверно выше по сравнению с контрольной группой (29,1% против 13,6%;  $p=0,03$  и 27,9% против 13,6%;  $p=0,05$  соответственно). При исследовании инфекционных маркеров достоверных отличий между двумя подгруппами выявлено не было. Остается неясным, почему одни те же инфекционные агенты в одних случаях привели к прерыванию беременности, а в других – нет.

Последы, полученные от женщин основной группы имели ряд морфологических отличий от группы контроля. Плаценты аномальной формы достоверно чаще встречались в основной группе: (53% против 8%;  $p=0,02$ ). Только в 1 группе встретились последы треугольной (13%), каплевидной форм (13%) и двудолевая плацента (7%). Более половины плацент основной группы имели аномалию формообразования последа в виде ободка или валика (53%). Достоверно большее количество последов основной группы имело эксцентричное прикрепление пупочного канатика (53% против 16%;  $p=0,04$ ). Пуповинный остаток большинства плацент 1 группы умеренно извит (80%), у части – с отеком вартонова студня (47%), ложными узлами и извитым ходом сосудов в них (47%). Средние органометрические параметры плацент, такие как масса и площадь материнской поверхности не имели достоверных отличий от группы контроля, хотя и имели тенденцию к снижению (масса 292,2[200,0–389,0] г и 482,8[426,5–537,5]; площадь 195,9[156,0–246,0] и 285,9[220–337] см<sup>2</sup> в 1 и 2 группах соответственно). Последнее вероятно связано с меньшим сроком гестации, при котором были получены плаценты.

На плодовой поверхности плацент, так же как и в контрольной группе, преобладали рассыпной и промежуточный типы ветвления сосудов (40% и 27% соответственно). Однако в трети плацент имел место магистральный тип ветвления сосудов (33%). Магистральный тип кровоснабжения плаценты отличается не только неравномерным, асимметричным распределением сосудов, но и отсутствием анастомозов между ними. Для таких плацент типична гиповаскуляризация краевых зон. Более трети плацент (40%) имели на плодовой поверхности патологические очаги (субамниальные гематомы, белесоватые плотные очаги), однако достоверных отличий от группы контроля не выявлено ( $p=0,42$ ). На материнской поверхности плацент в отличие от группы контроля достоверно чаще отмечены сгустки крови размерами от 4x1 см до 7x3 см ( $p=0,003$ ). При этом в части плацент (21%) сгустки были плотно спаяны с подлежащим ворсинчатым хорионом, что свидетельствует о наличии преждевременной отслойки плаценты.

При гистологическом исследовании более половины плацент, также как и в контрольной группе, структура ворсинчатого хориона соответствовала сроку гестации. Однако в 7 плацентах (47%) диагностированы различные нарушения созревания ворсинчатого хориона (увеличение количества промежуточных незрелых ворсин, варианты промежуточных дифференцированных ворсин и диссоциированного развития ворсин в котиледонах, а также нарушение дифференцировки магистральных сосудов стволых ворсин), что достоверно чаще чем в группе сравнения ( $p=0,02$ ).

Воспаление вирусной или вирусно-бактериальной этиологии диагностировано в большинстве последов (80%), что в 5 раз чаще, чем в контрольной группе. При этом распространение инфекции осуществлялось преимущественно гематогенным путем. Достоверно чаще в плацентах данной подгруппы диагностирован базальный ( $p=0,0003$ ) и париетальный децидуит ( $p=0,0004$ ). Клеточный состав воспалительного инфильтрата представлен в большинстве случаев (80%) мононуклеарными элементами (лимфоциты, гистиоциты, плазмоциты), в остальных случаях – смесью мононуклеарных элементов с нейтрофильными лейкоцитами. В половине плацент отмечена картина пролиферативного виллузита с преобладанием пролиферации клеточных элементов и инфильтрацией стромы лимфоцитами и макрофагами ( $p=0,001$ ). Во всех случаях виллузит завершился вторичным склерозом стромы ворсин с исходом во вторичную гиповаскуляризацию ворсинчатого хориона ( $p=0,01$ ). Признаки восходящего бактериального инфицирования на фоне гематогенного обнаружены у 6 женщин (40%). В их последах выявлен диффузный экссудативный внеплацентарный амниохориодецидуит, плацентарный амниохорионит, субхориальный интервиллезит, сосудисто-стромальный фуникулит ( $p=0,05$ ).

В плацентах данной подгруппы достоверно чаще диагностированы острые нарушения маточно-плацентарного кровообращения в виде расслаивающих кровоизлияний в базальную децидуальную оболочку и острой отслойки плаценты ( $p=0,02$ ). В зоне отслойки базальная пластинка либо отсутствует, либо разобщена и фрагментирована. Отслойка плаценты сочеталась с незавершенной гестационной перестройкой спиральных артерий. Стенки сосудов неравномерной толщины с прерывистым слоем фибриноида и сохранившимися фрагментами мышечно-эластических структур. Кроме перечисленных нарушений кровообращения в межворсинчатом пространстве центральных и субхориальных отделов в трети случаев встречался распространенный стаз-тромбоз.

Хронические расстройства кровообращения в виде ишемических инфарктов и хронических геморрагических инфарктов не имели достоверных отличий от группы контроля ( $p=0,12$  и  $p=0,23$  соответственно). Однако количество и площадь афункциональных зон в плацентах данной подгруппы достоверно выше контрольной группы ( $p=0,01$ ).

Адаптивно-компенсаторные процессы, в отличие от группы контроля, были менее выражены и носили очаговый характер; представлены в основной массе плацент гиперплазией синцитиальных почек и гиперемией промежуточных и терминальных ворсин (по 40%), а также гиперплазией терминальных ворсин (33%). Только в 2 плацентах отмечена гиперплазия капилляров терминальных ворсин, что достоверно реже, чем в контрольной группе ( $p=0,05$ ).

В структуре плацентарной недостаточности, в отличие от контрольной группы, преобладала хроническая субкомпенсированная плацентарная недостаточность (80%;  $p=0,0004$ ). Морфологическим субстратом последней явились воспаление и расстройства кровообращения на фоне менее выраженных очаговых адаптивно-компенсаторных процессов. Кроме этого, достоверно чаще констатирована острая плацентарная недостаточность (6 случаев, 40%), обусловленная преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты ( $p=0,05$ ).

При иммуногистохимическом исследовании в плацентах позитивная реакция с CD59 выявлена в цитотрофобласте, децидуальных клетках базальной децидуальной оболочки и синцитиотрофобласте ворсин. Индекс экспрессии в группе контроля составил 2,02 [1,8-2,2] условные единицы (у.е.) в клетках цитотрофобласта, 1,97 [1,8-2,2] у.е. в децидуальных клетках базальной пластинки и 2,37 [2,2-2,6] у.е. в синцитиотрофобласте ворсин.

Экспрессия CD59 в плацентах при преждевременных родах отличалась от таковой группы контроля меньшей интенсивностью иммуногистохимического окрашивания цитоплазмы децидуальных клеток, цитотрофобласта и синцитиотрофобласта ворсин. Индекс экспрессии CD59 достоверно уменьшился по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы во всех вышеуказанных структурах (1,113[1,0-1,2] у.е. в цитотрофобласте; 1,058[0,9-1,2] у.е. в децидуальных клетках; 0,993[0,9-1,0] у.е. в синцитиотрофобласте ворсин).

**Заключение.** Таким образом, у женщин с невынашиванием беременности в сроке 22-33 недели достоверно чаще отягощен акушерско-гинекологический анамнез; значимо чаще отмечены заболевания ЛОР-органов и хронический пиелонефрит; выявлено повышение частоты встречаемости маркеров урогенитальных инфекций. Установлено достоверное снижение экспрессии комплемент-ингибирующей молекулы CD59 в базальной пластинке и ворсинчатом хорионе плацент. При этом, у женщин основной подгруппы, беременность которых завершилась преждевременно, уровень CD59 был достоверно ниже, чем у женщин основной подгруппы, родивших в срок. Вероятно, снижение экспрессии комплемент-ингибирующих молекул при угрозе невынашивания беременности поздних сроков приводит

к дополнительной активации иммунного ответа материнского организма и служит возможным предиктором развития преждевременных родов.

### Список литературы

1. Зубжицкая, Л. Б. Иммуноморфологическое состояние плаценты при акушерской патологии / Л. Б. Зубжицкая, Н. Г. Кошелева, В. В. Семенов, под ред. Э.К. Айламазяна. – СПб.: Нордмедиздат, 2005. – 304 с.
2. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет / О. В. Макаров [и др.] – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 176 с.
3. Одинцов, Ю. Н. Биологические функции комплемента / Ю. Н. Одинцов, В. М. Перельмутер // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – № 2. – С. 72–82.
4. Посисеева, Л. В., Сотникова Н.Ю. Иммунология беременности. Акушерство и гинекология 2007, № 5, С. 42-45.
5. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. / Под ред. Петрова С.В., Райхлина Н. Т. – Казань, 2004. – 456 с.
6. Сидельникова, В. М. Преждевременные роды. Недоношенный ребенок / В. М. Сидельникова, А. Г. Антонов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 448 с.
7. Abrahams, V. M. Toll-like Receptors and their Role in the Trophoblast / V. M. Abrahams, G. Mor // Placenta. – 2005. – Vol. 26. – P. 540–547.
8. Caucheteux, S. M. At the innate frontiers between mother and fetus: linking abortion with complement activation / S. M. Caucheteux, C. Kanellopoulos-Langevin, D. M. Ojcius // Immunity. – 2003. – Vol. 18. – P. 169–172.
9. Early recognition of pregnancy by the maternal immune system / K. Kelemen [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. 1998. – Vol. 39. – P. 351–355.
10. Romero, R. Novel aspects of neutrophil biology in human pregnancy / R. Romero // Am. J. Reprod. Immunol. – 2005. – Vol. 53. – P. 275.

### Рецензенты:

Панова И.А., д.м.н., зав. отдела акушерства и гинекологии ФГБУ "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Иваново.

Перетятко Л.П., д.м.н., профессор, зав. лабораторией патоморфологии и электронной микроскопии ФГБУ "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Иваново.